

① 12

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-352726

(43)Date of publication of application : 07.12.1992

(51)Int.Cl.

A61K 35/78
A23L 1/30
A61K 35/78

(21)Application number : 03-160034

(71)Applicant : NIKKO KYODO CO LTD

(22)Date of filing : 03.06.1991

(72)Inventor : HAYASHI EIICHI
KUNITOMO MASARU
YAMAZOE HIROSHI
HAYASHI MACHIKO
YAMAGUCHI MASARU
IKEDA KUNIIHIKO

(30)Priority

Priority number : 40221748 Priority date : 17.08.1990 Priority country : JP

**(54) ARTERIAL SCLEROSIS-PREVENTING AGENT AND FUNCTIONAL FOOD HAVING
ARTERIAL SCLEROSIS-PREVENTING ACTIVITY**

(57)Abstract:

PURPOSE: To provide a drug and a functional food containing as an active ingredient an extract obtained by extracting safe tea leaves originated from the natural material without a chemical substance dangerous against human bodies and having an arterial sclerosis-preventing activity.

CONSTITUTION: A non-poisonous arterial sclerosis useful for preventing or treating the arterial sclerosis contains as an active ingredient a tea extract obtained by extracting tea leaves with water, an alcohol or a mixture thereof as an extraction solvent, preferably a lyophilized product obtained by lyophilization removing the solvent from the tea extract. The tea extract is added to a food to provide a functional food capable of lowering not only cholesterol in blood but also fats accumulated on the inner surface of an artery such as the aorta to prevent the generation of the arterial sclerosis. The active ingredient is administered in a dose of approximately 1-2g a day for an adult in the case of powder, and in a dose of 3-7g several times a day in the case of a concentrated solution.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision]

of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/78	A B X C	7180-4C		
A 2 3 L 1/30		B 8114-4B		
A 6 1 K 35/78	A D N	7180-4C		

審査請求 未請求 請求項の数4(全 10 頁)

(21) 出願番号 特願平3-160034

(22) 出願日 平成3年(1991)6月3日

(31) 優先権主張番号 特願平2-217481

(32) 優先日 平2(1990)8月17日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

特許法第30条第1項適用申請有り 1990年7月20日 社
団法人日本薬学会発行の「日本薬学会第110年会講演要
旨集」に発表

(71) 出願人 000231109
日本鉱業株式会社
東京都港区虎ノ門二丁目10番1号

(72) 発明者 林 栄一
静岡県静岡市緑町7番32号

(72) 発明者 国友 勝
兵庫県芦屋市高浜町3番1の724

(72) 発明者 山添 寛
静岡県浜松市萩丘四丁目1番10号

(72) 発明者 林 真知子
静岡県静岡市緑町7番32号

(74) 代理人 弁理士 藤野 清也

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 動脈硬化防止剤及び動脈硬化防止作用を有する機能性食品

(57) 【要約】

【目的】 茶葉を原料として動脈硬化防止作用を有する
薬剤及び機能性食品の提供

【構成】 茶葉を水、アルコール又はこれらの混合溶液
を抽出溶媒として抽出した茶抽出物又はその凍結乾燥物
を有効成分とする動脈硬化防止剤及び該作用を示す機能
性食品

【特許請求の範囲】

【請求項1】 茶葉を水、アルコール又はこれらの混合溶液を抽出溶媒として抽出した茶抽出物を有効成分とする動脈硬化防止剤

【請求項2】 茶抽出物が水、アルコール又はこれらの混合溶液を抽出溶媒として抽出した抽出液から溶媒を除去し、凍結乾燥したものである請求項1記載の動脈硬化防止剤

【請求項3】 茶葉を水、アルコール又はこれらの混合溶液を抽出溶媒として抽出した茶抽出物を含有せしめてなる動脈硬化防止作用を有する機能性食品

【請求項4】 茶抽出物が水、アルコール又はこれらの混合溶液抽出溶媒として抽出した抽出液から溶媒を除去し、凍結乾燥したものである請求項3記載の動脈硬化防止作用を有する機能性食品

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、茶葉の水又はアルコール抽出物を有効成分とする動脈硬化防止剤もしくは機能性食品に関する。

【0002】

【従来の技術】 近年、各種の成人病、特に動脈硬化にもとづく心臓あるいは脳疾患が癌とともに死亡原因で大きなウェートを占めている。動脈硬化は、ある程度年令をとるに従って進行するが、最近は栄養の過剰摂取によることが多く、この傾向は今後とも増加するものと予想される。従って動脈硬化を予防する薬剤あるいは食品が強く求められており、各方面から動脈硬化を防ぐ数多くの研究や検討が進められている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 しかし、動脈硬化の予防あるいは治療に用いられる薬剤等の多くはその殆んどが、化学合成で製造されたものであり、またたとえ植物や動物からの材料を用いた天然物由来のものであっても、その精製過程で人体に害を及ぼす化学物質を用いたり、生成物の一部を化学物質と反応させてつくられたものが多い。

【0004】 一方、茶は古くより保健と延命の妙薬として知られている。茶又は茶の抽出物を含め、その薬効としてカフェイン効果、カテキン効果、ビタミンC効果などが良く知られている。また、茶の成分を分画して得られるカテキン類がコレステロール上昇を抑止することは知られている（特開昭60-156614号公報、特開平1-299224号公報）。茶の効果はこれらの個々の効果によることは勿論であるが、茶又は茶の抽出物に含まれる全ての成分による総合的な効果が茶の効果として表れるものと考えられる。

【0005】 そこで、本発明者等は、天然物由来の安全性の高い茶葉を原料として、人体に危険な化学薬品を用いることなく、単に水あるいはアルコールで抽出した抽

出物を用いて、その薬理作用について鋭意研究を重ねた結果、茶抽出物がその単なる一成分による効果ではなく、その成分が相乗的に作用し、優れた動脈硬化防止作用を奏することを見出した。

【0006】

【問題点を解決するための手段】 本発明は、上記知見に基づいてなされたものであって、茶抽出物を有効成分として含有することを特徴とする動脈硬化防止剤及び機能性食品である。

【0007】 本発明における茶抽出物は、ツバキ科の常緑低木 *Thea Sinesis* L. の葉を水あるいは人体に無害なアルコールもしくはこれらの混合溶液で抽出する。これらは生の葉部を使用してもよく、また葉部を乾燥して用いてもよく、さらに葉部を醗酵させあるいは醗酵させることなく蒸成し、揉捻、乾燥を行ったものを用いてもよい。このようなものとして緑茶、煎茶、ほうじ茶、ウーロン茶、紅茶等がある。

【0008】 抽出は、例えば乾燥した茶葉100重量部に対し溶媒500～5000重量部を加えて行う。溶媒としては、水、温湯、熱湯あるいはエタノールもしくはその含水物が用いられ、乾燥した茶葉を前記溶媒に浸漬するかあるいは加熱下で3分間～10時間抽出を行うことが望ましい。得られた抽出液は、抽出溶剤を除去して濃縮する。濃縮は、前記抽出液を茶抽出成分が30wt%程度になるまで濃縮する。なお、乾燥した葉100重量部は生葉約500重量部に相当する。また、アルコール抽出液の場合濃縮する前後に、活性炭、酸性白土あるいは珪藻土等を用いて不必要な成分を吸着除去し、濃縮液を脱色してもよい。

【0009】 さらに、濃縮液を蒸発乾固したりあるいは凍結乾燥し、粉末としてもよい。特に抽出液を活性炭で処理し、凍結乾燥を行うと得られる製品の保存中の変色を防止することができる。得られた濃縮液または粉末が本発明では茶抽出物として用いられる。これらはそのまま用いてもよく、あるいはこれらをドリンク剤、錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤等としたものを用いてもよい。さらに、清水に溶解して用いてもよく、またこれらを飲食品原料に添加して用いてもよい。添加量としては1日当り粉末の場合1～2gを、濃縮液の場合3～7gを摂取するようにするとよい。飲食品としては、例えばジュース、酒類、ビール等の飲料、麺、パン、米飯、ビスケット等の穀類加工食品、ソーセージ、ハム、カマボコ等の練製品、バター、ヨーグルト等の乳製品、チューインガム、キャンデー等の菓子、ふりかけ、調味料等が用いられ、これらの製造の適宜の段階で必要量添加することができる。

【0010】 本発明における茶抽出物は、前記したように3分～10時間抽出され、茶抽出物濃度30wt%程度に濃縮されるかあるいは乾燥固化又は粉末化されたものであって、このような長時間抽出が行われ、かつ濃縮

されている点で通常の茶飲料とは明確に相違する。本発明における動脈硬化防止剤は、前記したように濃縮液そのままあるいはドリンク剤、錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤等の形として経口的に投与される。これらの剤の製造は、茶抽出物濃縮液あるいは粉末に増量剤、バインダー、崩壊剤、矯味剤、矯臭剤、着色剤等をその製剤の剤型に応じて加えて従来知られている慣用の製剤の製造法を用いて製造するとよい。投与量は、成人に対し粉末の場合1日約1～2gを、また濃縮液の場合は3～7gを一日数回に分けて投与する。この投与量は、通常茶を飲用するときの数倍に相当する。この抽出物は常用されている茶葉の成分であるので毒性はなく、従って上記投与量を超えて投与しても何等支障はない。このようにすると動脈硬化症を予防することができるばかりではなく、その治療にも有用である。

【0011】また、本発明における機能性食品は、前記したように本発明における茶抽出物を添加した飲食品であって動脈硬化症の予防あるいは治療に有用である。また、得られた茶抽出物の固体を、清水に溶かして、食品とともに摂取すると、血液中のコレステロールの低下はもとより、大動脈等の動脈内表面に蓄積した脂肪分も減少し、蓄積が抑制され、動脈硬化症の発生を予防することができる。

【0012】本発明についてさらに詳細かつ具体的に説明する。

(1) 茶抽出物の製造

① 水抽出物の製造

静岡産の煎茶50gを70℃の温水1000mlに5分間浸出操作を行い、濾過した。濾液のpHは約5.9であった。この濾液を直ちに凍結乾燥した。こうして緑色微粉末状の茶抽出物12gを得た（抽出物1g当り煎茶4.2gのなかの抽出成分を含有）。

② アルコール抽出物の製造

乾燥茶葉100gを95%エタノール1000mlに浸漬し、80℃で3時間抽出した。得られた抽出液を濾過して茶葉を除去した後、茶葉抽出物濃度が約5wt%程度になる迄濃縮した。該濃縮液に清水210ml及び活性炭85gを入れ、約60℃で3時間攪拌混合した。そして、活性炭を濾過除去した後、エタノールと水の一部とを蒸発除去して、茶成分濃度約50%に濃縮したところ、濃褐色の水溶液30gを得た。このようにして得た温水抽出物、及びエタノール抽出物の成分分析値(wt%)を、表1に示す。

【0014】

【表1】

茶抽出物名 形態	熱水抽出物 凍結乾燥品	エタノール抽出 物水溶液	粗カテキン 粉末
成分名			
水分	1.2	53.6	
脂質	0.6	0.3	
灰分	11.5	1.3	
全窒素	3.5	1.1	
無水カフェイン	7.5	2.1	
タンニン	31.8	20.8	80.0以上
(エピカテキン)	(3.3)	(1.4)	
(エピカテキンガレート)	(2.5)	(2.1)	
(エピガロカテキン)	(11.0)	(5.9)	
(エピガロカテキンガレート)	(15.0)	(8.9)	
フラボノイド	2.3	0.4	
(ケンフェロール)	(0.9)	(0.04)	
(ケルセチン)	(0.7)	(0.15)	
(ミリセチン)	(0.3)	(0.10)	
全糖	12.9	10.9	
水溶性多糖類	2.4	0.01	
全アスコルビン酸	0.9	N.D.	
テアニン	2.1	0.5	
総クロロフィル	15.9*	N.D.	
カルシウム	0.06	0.01	
ナトリウム	0.02	0.04	
カリウム	5.50	0.62	
マグネシウム	0.04	0.02	

単位はwt%を示す。ただし、*印は単位mg/100gを示す。また()はタンニンあるいはフラボノイド中に含まれる含量をN. D. は検出されずをそれぞれ示す。

【0015】(2) 動脈硬化予防試験

① 長期投与試験

(1) 試験方法

1群10匹のICR系雄性マウス(5週令)を5群用意し、表2に示す組成(wt%)の標準食(I群)と動脈硬化形成食(II~V群)を投与した。動脈硬化形成食には、血清コレステロール値を増加させる目的でコレステ*

*ロール1.5%及びコロール酸0.5%が、また血清過酸化脂質値を増加させる目的でリノール酸5%が含まれている。両飼料とも-20℃のフリーザ中に保存し実験では毎日新しい飼料を与えた。飼料は各動物個々に一定量を与え、摂取量を毎日測定した。

【0016】

【表2】

	標準食	動脈硬化形成食
シュクロース	63.0	61.2
カゼイン	20.0	20.0
寒天	2.0	20.
ココナツ油	10.0	5.0
リノール酸		5.0
ビタミン混合物 ^{a)}	0.8	0.8
塩混合物 ^{b)}	4.0	4.0
コレステロール		1.5
コロール酸		0.5

【0017】ビタミン混合物^{a)}は、飼料100gあたり、VA 3000 (IU)、VD₂ 300 (IU)、VB₁ HCl 0.5(mg) (以下特に記載しない限りmgを示す)、VB₂ 0.6、VB₆ HCl 0.5、VB₁₂ 0.5 (μg)、VE 1.0、VK₃ 0.5、パントテン酸カルシウム 2.0、ナイアシン 2.0、p-アミノ安息香酸 2.0、d-

ビオチン 0.01、葉酸0.05、イノシトール100、塩酸コリン150を含有する。

【0018】塩混合物^{b)}は、飼料100gあたり、CaCO₃ 1200mg (以下、特に記載しない限りmgを示す)、K₂HPO₄ 1300、CaHPO₄・2H₂O 300、MgSO₄・7H₂O 408、NaCl 67

2、クエン酸鉄 112、KI 3.2、 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 20、 ZnCl_2 1.0、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.2を含有する。

【0019】また、水分の補給として蒸留水（I群及びII群、自由に摂取）及び前記（1）で得られた茶抽出物を蒸留水に溶解した溶液（III群～V群）を投与した。

【0020】III群～V群の茶抽出物の摂取量は、1日当たり次の基準で投与した。

III群 茶抽出物 50mg/体重Kg

IV群 茶抽出物 100mg/体重Kg

V群 茶抽出物 200mg/体重Kg

マウスの飼育は、室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 5\%$ 、照射時間12時間（7時～19時）で、14週間行った。その間採血のために実験開始前夜、2週間置きに一夜及び最終日の夜は絶食させた。

【0021】試験項目としては、飼育期間中は、体重、血清中の総コレステロール含量、過酸化脂質含量の変化を測定し、試験期間終了後は、血清あるいは臓器を採取し、それぞれについて各種の理化学的検査を行った、すなわち、

a. 週2回体重を測定した。

b. 2週間ごとに絶食後、エーテル麻酔下にマウスの眼底から0.2mlの血液を採血し、血清サンプルを調製し、総コレステロール、過酸化脂質を測定した。

【0022】c. 実験終了時（14週間後）においては、前述と同様の方法で採血し、動物を脱血死させた後、肝臓および大動脈（胸部と腹部）を摘出し、各々の湿重量を測定した。血液は、血清分離後、血清中の総コレステロールおよび遊離型のコレステロール、リン脂質、トリグリセリド、過酸化脂質およびレシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼ（LCAT）活性の測定に供した。血清の一部は、ヘパリン-マンガン沈澱法〔G. R. Warnick等J. Lipid Res. 19, 65(1978)〕にて高比重リポタンパク（HDL）を分画後、HDL画分中の総コレステロールの測定に供した。肝臓は、Folch等〔J. Folch, J. Biol. Chem. 226, 497(1959)〕の方法により、クロロホルム：メタノール（2:1v/v）にて脂質を抽出し、総および遊離型コレステロール、トリグリセリドおよびリン脂質の測定に供した。大動脈は、凍結乾燥後、重量を秤量し、2mlのクロロホルム：メタノール（2:1v/v）に浸漬、50℃、20分間加熱して脂質を抽出し、総および遊離型コレステロールの測定に供した。

【0023】血清、HDL画分、肝臓および大動脈中の総および遊離型コレステロールは蛍光酵素法〔M. Kunitomo等, J. Pharmacol. 42, 261(1986)〕により測定した。LCAT活性はDieplinger等〔H. Dieplinger等, Clin. Chim. Acta 106, 319-324(1980)〕の方法に準じて測定し、血清中の遊離型コレステロールのエステル化速度（nmol/ml/hr）で表示した。トリグリセリドはトリグリセリドEテストワコー（和光純薬）を用いて測定した。リン脂質はYoshidaら〔Yoshida等; J. Acta Biochem. 88, 463(1

980)〕の方法を用いて測定した。過酸化脂質はYagi〔Yagi等: Biochem. Med. 15, 212(1976)〕の方法に準じて測定し、チオバルビツール酸反応物質（TBA-RS）量で表示した。

【0024】得られた実験値は平均値±標準誤差で表示し、II群との実験値間の有意差検定にはStudentのtテストを適用した。

【0025】(ii) 試験結果

測定結果を図1～図5及び表3～表4に示す。

10 【0026】A. 実験期間中の測定結果

a. 体重

図1に示すように、標準食を与えた群（I群）の体重にくらべて動脈硬化食を与えた群（II～V群）の体重は抑制された。対照群（II群）と茶抽出物を投与した群（III～V群）との間に有意な差は認められなかった。

【0027】b. 血清コレステロール値の経時変化

図2に示すように、実験開始2週以後、対照群（II群）の血清総コレステロール値は、正常群（I群）の2倍以上の濃度を維持した。このようにして増加したII群の血清コレステロール値に比べ、茶抽出物を与えたIII～IV群では、6週以後低い値を示し、10週目にはIIIおよびV群の値とII群の値の間に有意差が認められた。しかし、実験終了時の14週目においてはII群と緑茶抽出物投与群との間に有意差がみられなくなった。

20 【0028】c. 血清過酸化脂質値の経時変化

2週毎に測定した血清過酸化脂質値の経時変化を図3に示した。対照群（II群）の過酸化脂質値は、実験期間が経過するにつれ次第に増加した。緑茶抽出物投与群（III～V群）の過酸化脂質値は、II群に比べ8週以後用量依存的に低い値を示した。最高用量（200mg/Kg/日）を投与したV群の値では、2週より実験終了時まで有意な低下がみられた。なお、標準食を与えた正常群（I群）の血清過酸化脂質の値は、実験期間を通じて図3に示した実験開始時の値とほぼ同じレベルの8.9 nmol/mlの濃度で推移した。

30 【0029】B. 実験終了時における血清・大動脈及び肝臓の脂質変化

a. 血清脂質

表3に示すように実験終了時においては、茶抽出物投与による血清総コレステロール（TC）の低下作用は軽度であった。遊離型（FC）およびエステル型（EC）コレステロールの変化も、総コレステロールとほぼ同様に抑制された。その結果、エステル比（エステル型コレステロール値/総コレステロール値EC/TC）には、各群間で差がなかった。遊離型コレステロールをエステル型コレステロールに変換する酵素であるLCAT活性はI群に比べII群は著しく低下したが、III～V群では、II群より高い活性を示した。またリン脂質（PL）も茶抽出物投与群（III～V群）は対照群（II）よりも低かった。

40 【0030】

【表3】

群	茶葉抽出物投与量 mg/Kg/日	個体数	TC	FC	EC/TC	LCAT	PL	TC	HDL-TC
			(mg/100ml)	(mg/100ml)	(%)	(nmol/ml/hr)		(mg/100ml)	
I	標準食	10	196 ±10**	43.4 ±2.6**	77.8 ±1.2	65.9 ±4.6*	188 ±10	151.9 ±13.9**	121 ±7
II	対 照	10	490 ±21	101.3 ±4.6	79.4 ±0.3	46.6 ±4.2	268 ±13	74.4 ±5.9	100 ±7
III	50	10	451 ±24	92.1 ±5.5	79.6 ±0.4	61.7 ±6.9	262 ±12	80.9 ±7.8	94 ±3
IV	100	10	458 ±26	94.1 ±5.5	79.4 ±0.5	54.2 ±8.1	239 ±12	71.2 ±7.3	86 ±4
V	200	10	486 ±24	101.6 ±5.2	79.1 ±0.4	58.2 ±7.0	237 ±11	59.6 ±8.2	81 ±5

表中、* は $P<0.05$ ，**は $P<0.01$ を示す。またPLはリン脂質、TGはトリグリセリド、

HDL は高比重リポタンパクを示す。

【0031】b. 大動脈脂質

表4に示すように、II群の大動脈中コレステロール値はI群より有意に増加、その総、遊離型およびエステル型コレステロール値の増加率はそれぞれ27、24、14%であった。これに対し、茶抽出物によってコレステロ*

*ールの増加は用量依存的に抑制された。なかでも総(TC)およびエステル型(EC)コレステロール値においてII群とIV及びV群の間に有意差があった。

【0032】

【表4】

群	茶葉抽出物投与量 mg/Kg/日	個体数	TC	FC	EC
			(mg/g dry weight)	(mg/g dry weight)	(mg/g dry weight)
I	標準食	10	6.69±0.24**	5.99±0.23**	0.70±0.09**
II	対 照	10	8.52±0.16	7.45±0.09	1.08±0.06
III	50	10	8.22±0.13	7.21±0.13	1.01±0.04
IV	100	10	7.90±0.17*	7.05±0.17	0.85±0.05*
V	200	10	7.87±0.18**	7.06±0.16	0.82±0.07*

表中、* は $P<0.05$ ，**は $P<0.01$ を示す。

【0033】c. 肝臓脂質

肝臓脂質中のコレステロール含量を図4に示す。第II群(対照群)の肝臓のコレステロール値は標準食を与えた第I群と比べ著しく増加した。しかし、茶抽出物投与の第III群と第IV群の遊離型コレステロールは有意に減少し、総コレステロール及びエステル型コレステロールは軽度の減少が見られる。

【0034】d. 臓器重量

図5に示すように、肝臓は、動脈硬化食を与えた群の重量が標準食を与えた群のそれに比べて増加した。しかし脂肪肝の程度は比較的軽度であった。また、脾臓の重量は、茶抽出物の投与により、用量依存的に増加がやゝ抑制された。

【0035】以上は、マウスの動脈硬化モデルを用い茶抽出物とその脂質レベルに、如何なる影響を与えるかを検討したものである。比較的低用量の茶抽出物(50~200mg/Kg/日)の投与によって血清のコレステロール、過酸化脂質及びリン脂質が低下し、大動脈及び肝臓のコ

レステロールの増加が抑制されるという注目すべき結果が得られた。

【0036】このような結果は緑茶の飲用によって動脈硬化の進行が予防できる可能性を示すものである。現在までに茶抽出物の成分であるタンニンの構成成分であるカテキンの脂質低下作用が報告されている。しかし茶葉中にはカテキン類の他に脂質低下作用を有する成分としてフラボノイド、ビタミンC、マグネシウムなども含まれている。茶の血清コレステロール低下作用はカテキンのみでなく、これらいくつかの茶成分の相互作用にもとづくと判断される。

【0037】本発明では、リノール酸5%添加飼料をマウスに与え血清過酸化脂質を増加させた条件において、茶抽出物が顕著かつ用量依存的な抑制を示した。また、本発明において、マウスの動脈硬化モデルの生化学的追究により、大動脈へのコレステロール蓄積、なかでも動脈硬化病変部位に増加するといわれるエステル型コレステロールの蓄積が、茶抽出物の投与により防止され

たことは注目に値することである。

【0038】過酸化脂質と動脈硬化発症・進展との関係は次第に明らかにされつつある。すなわち、過酸化脂質は血管内皮細胞障害を引き起こす、マクロファージや平滑筋細胞の泡沫細胞化を進行させる、内皮細胞のプロスタサイクリン合成を抑制して動脈壁障害に対する防御機構を低下させるなどの報告がなされている。最近、低比重リポ蛋白 (LDL) の酸化変性が粥状動脈硬化発症に深く関与することが明らかにされた。実際、過酸化脂質で直接変性させたLDLがマクロファージに取り込まれ、泡沫化を進行させることが証明されている。本発明で得られたマウス大動脈へのコレステロール蓄積および茶抽出物による抑制の機序については明らかでない。しかし、本発明において用いた茶抽出物による動脈壁へのコレステロール蓄積抑制は、茶抽出物のもつ強い過酸化脂質低下作用とコレステロール低下作用との協力作用により惹起されたことになると考えられる。この実験結果からみて、茶抽出物はヒトの日常の飲用量に近い量の数倍量で、血液中の過剰コレステロールの低下作用と過酸化脂質の低下作用を示し、且つ大動脈壁の動脈硬化性変化を

10

20

*

第I群	無処置	
第II群	トライトン投与	
第III群	"	+温水抽出物 200mg/Kg×2回投与
第IV群	"	+温水抽出物 500mg/Kg×2回投与
第V群	"	+アルコール抽出物 300mg/Kg×2回投与
第VI群	"	+アルコール抽出物 750mg/Kg×2回投与
第VII群	"	+粗カテキン 80mg/Kg×2回投与
第VIII群	"	+粗カテキン 200mg/Kg×2回投与

また、実験期間中は絶食期間 (採血前18時間) を除き、マウス、ラット用の餌 (日本クレア (株) 製、CE-2) を自由に摂取させた。

【0042】試験手順をより具体的に説明する。①トライトンは、静脈に225mg/kgを1回投与 (注射) した。②茶抽出物及び粗カテキンは、トライトン投与前、及びそれから18時間後の2回経口強制投与した (粉末は茶成分50wt%程度の水溶液で投与した)。③採血はトライトン投与から24時間後に、尾静脈から行なった。④ラットは、採血の前18時間絶食とした。採取した血液は、血清を分離して、次の項目について測定した。

【0043】総コレステロール (TC) 蛍光酵素法 [M. Kunitomo 等, J. Pharmacol. 42, 261 (1986)]
遊離型コレステロール (FC) 蛍光酵素法 [M. Kunitomo 等, J. Pharmacol. 42, 261 (1986)]
リン脂質 (PL) Yishidaらの方法 [Yoshida 等 J. Acta Biochem. 88, 463 (1980)] 遊離脂肪酸 (FFA) 酵素比色法 [久城英人等, 臨床検査 15巻, 191 (1971)]

【0044】(ii) 試験結果

*② 短期投与試験

【0039】(1) 試験方法

1群6匹のラット (7週令) を8群用意して、無処置 (第I群) と高脂血症を誘発するトライトン (Triton WR1339) (第II群) を投与し、更に前記トライトンに加えて茶抽出物或いは粗カテキン (第III~VIII群) を投与して、血清脂質の上昇を抑制する茶抽出物の効果を確認した。

【0040】粗カテキンはカテキン類を80重量%以上含有する市販の粗カテキン (栗田工業社製: 商品名ポリフェノン100) を使用した。茶抽出物の脂質代謝に有効な成分はタンニン類 (カテキン類) であると言われているので、粗カテキンを茶抽出物と比較検討するため投与した。茶抽出物及び粗カテキンの投与量は、その中に含まれるカテキン (タンニン) の絶対量を第III群、第V群及び第VII群でほぼ等量となるように調整し、第IV群、第VI群及び第VIII群でもほぼ等量となるように調整した。

【0041】各群の処置をまとめると、次のようになる。

得られた測定値は各群6匹の平均値±標準誤差で表示し、表5に示す。また、第II群との測定値間の有意差検定にはStudent's t-testを適用した。(*は $P < 0.05$ 、**は < 0.01 を示す) 表5より、茶抽出物及び粗カテキンは、総コレステロール及び遊離脂肪酸の上昇を抑制することがわかる。特にエタノール抽出物が遊離脂肪酸の上昇を高/低両投与共に有為に抑制しており、優れていることを同表は示している。また、その他同表より、茶抽出物は、温水抽出物にせよ或いはエタノール抽出物にせよ、粗カテキンと比較して、カテキン含有量が少ないにもかかわらず、測定結果の上で遜色なくかえって優れているものも多いことがわかる。従って、茶抽出物の投与は、カテキン以外の成分との相乗効果があると判断される。また、エタノール抽出物を用いると、抽出物中のカフェイン含量及びカリウム含量が低いにもかかわらず、水抽出物の使用と同様の効果があり、カフェイン及びカリウムの摂取を低く抑制することができ、この点でも健康の面で有用である。

【0045】

【表5】

13

14

群別	T C	F C	P L	F F A
	mg/100ml			mEq/l
I	64±1**	15±1**	91±3**	0.873±0.049**
II	417±24	246±15	1078±71	1.101±0.048
III	395±11	221±13	1068±63	0.949±0.055
IV	381±6	251±10	1081±66	0.963±0.083
V	385±17	250±14	1045±50	0.886±0.064*
VI	372±20	215±23	1070±80	0.866±0.052**
VII	376±10	223±16	1048±45	0.923±0.074
VIII	386±11	249±16	1111±40	0.979±0.055

表中* は $P < 0.05$ 、** は $P < 0.01$ を示す。

【0046】

【実施例】次に本発明の実施例を示す。

実施例1

蒸留水1000mlを $70^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ に加熱し、これに茶葉(市販品)50gを二重ガーゼに包み、投入し攪拌しながら5分間抽出した。抽出液を外部を氷で冷却しながら 20°C まで冷却した。ガーゼを絞って茶葉中に含まれている水を回収した。この抽出液を真空濾過器で濾過し、約820mlの濾液を得た。次に、この濾液を -55°C に急速に冷却して凍結し、0.001気圧で脱水乾燥を行って、約12gの粉末(水分含量約1~1.5%)を得た。葉茶からの歩留りは24%であった。

【0047】実施例2

実施例1で得られた凍結乾燥粉末20重量部に、乳糖65重量部、デキストリン10重量部、タルク75重量部及び水適量を加え常法に従って錠剤とした。

【0048】実施例3

実施例1で得られた凍結乾燥粉末10gと蔗糖10g、水あめ64g、有機酸1g、香料0.2g及び水少量とを混合し、常法により加熱冷却し、キャンデーを製造した。

【0049】実施例4

乾燥茶葉100gを95%エタノール100mlに浸漬し、 80°C で3時間抽出を行なった。得られた抽出液を濾過して茶葉を除去し、茶葉抽出物濃度が約5wt%程度になるまで濃縮した。濃縮液に清水210ml及び活性炭85gを入れ、約 60°C で3時間攪拌混合した。そして、活性炭を濾別し、エタノールと水の一部とを蒸発除去し、茶成分濃度約50%に濃縮して濃褐色の水溶液

30gを得た。この水溶液を実施例2と同様にして錠剤を作成した。

【0050】実施例5

実施例4で得られた濃褐色の水溶液30gに水30ml、蔗糖20mg、クエン酸及びエッセンス少量を加えて飲料を製造した。

【0051】

【発明の効果】本発明は、茶葉から水又はアルコールを抽出溶媒として抽出した茶抽出物を有効成分とする動脈硬化防止剤又は茶抽出物を添加した機能性食品を提供するものである。本発明の動脈硬化防止剤又は機能性食品は茶抽出物の単一成分や特定の分画成分ではなく、抽出物の水溶性成分を広く包含し、その相互の相乗作用によって動脈硬化を予防あるいは治療することができる。特にアルコール抽出物は、カフェイン及びカリウム含量が低く、この面においても有用である。

【図面の簡単な説明】

【図1】動脈硬化食と本発明の茶抽出物とを投与したマウスと標準食を投与したマウスとの実験期間中の体重の変化を示す。

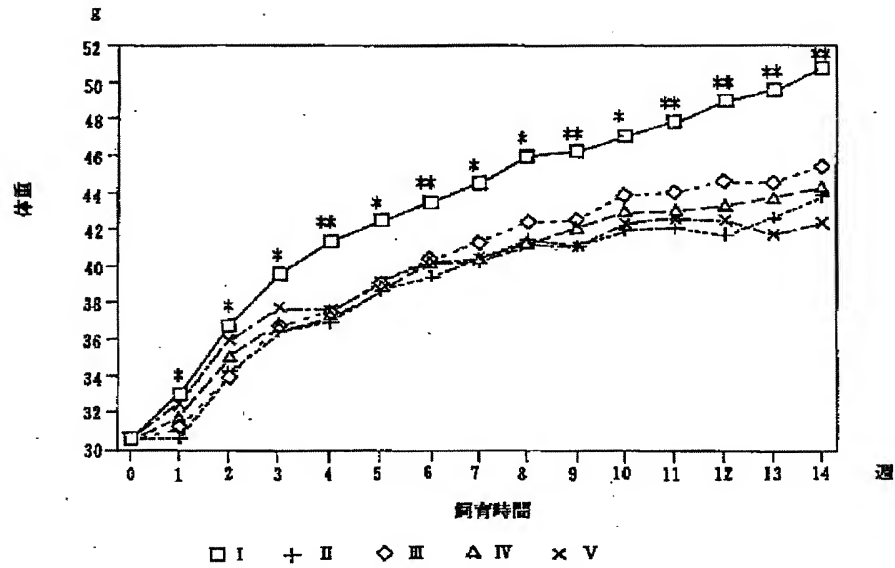
【図2】実験期間中の血清総コレステロール値変化を示す。

【図3】実験期間中の過酸化脂質の変化を示す。

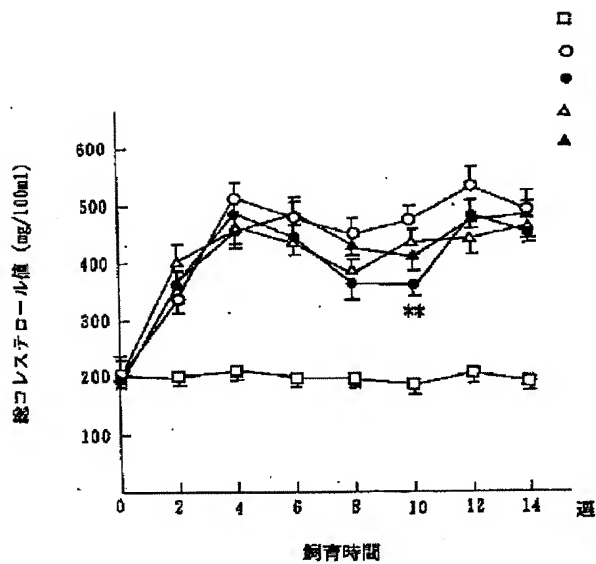
【図4】実験終了後の肝臓中のコレステロール含量を示す。

【図5】実験終了後の臓器重量を示す。*は対照群(II群)にくらべて $P < 0.05$ 、**は $P < 0.01$ 、***は $P < 0.001$ であることを示す。

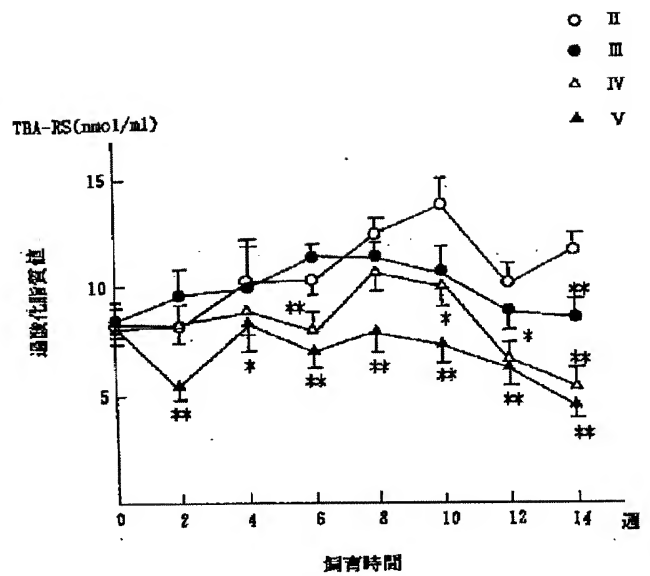
【図1】



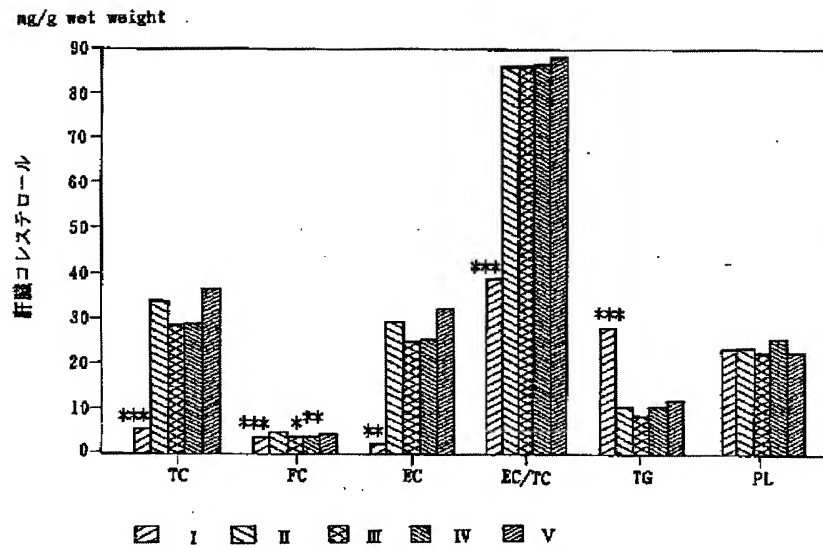
【図2】



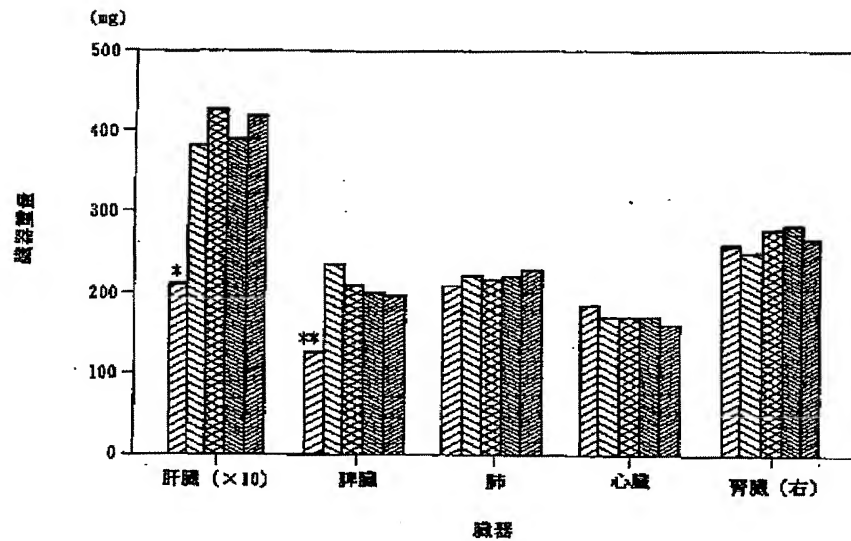
【図3】



【図4】



【図5】



フロントページの続き

(72)発明者 山口 優
大阪府大阪市北区中崎西2-3-28-303

(72)発明者 池田 邦彦
東京都港区虎ノ門二丁目10番1号 日本鉱業株式会社内